

УДК 577.1/3

С.В. Горобець, Л.В. Сорокіна, Т.В. Овсієнко

АГРОБАКТЕРІЇ ЯК ПОТЕНЦІЙНІ ПРОДУЦЕНТИ МАГНІТОЧУТЛИВИХ НАНОСТРУКТУР

The aim of the study was the identification of the homologues of the Mam proteins mediating the magnetite synthesis of *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 in the proteome of agrobacteria and their host plants. The identification of the protein homologues was performed by pairwise alignment using the online-service BLAST. It was shown that the strains of symbiotic and pathogenic agrobacteria (AB) that are able for the root nodules formation and their typical host plants could be potential producers contain the homologues of proteins indispensable for magnetite synthesis (MamB, MamM, Mamand MamO) in magnetotactic bacteria (MTB). These homologues have a common ancestor, similar folding and common functions with the respective proteins of MTB. Thus, the symbiotic and pathogenic agrobacteria and host plants could be the potential producers of biogenic magnetic nanoparticles or magnetosensitive nanostructures.

Keywords: agrobacteria, magnetotactic bacteria *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1, proteins of Mam-family.

Вступ

Формування пухлинних розростань коренів рослин в числі ряду чинників може бути спричинене проникненням у тканини коренів симбіотичних і патогенних агробактерій (АБ), які належать до родини *Rhizobiaceae* та населяють ризосферу ґрунту [1, 2]. Симбіотичні АБ індукують бульбочкоподібні розростання коренів бобових рослин, всередині яких виявляють здатність до азотфіксації, що сприяє азотному живленню рослин та позитивно відображається на їх врожайності. Патогенні форми АБ спричиняють необмежений злоякісний ріст тканин коренів низки плодових дерев, сільськогосподарських і декоративних рослин у вигляді корончатих галів, тератом, “волохатих коренів” тощо [1, 2].

Аналіз даних літератури [3, 4] вказує на те, що механізм проникнення в тканини коренів рослин патогенних і симбіотичних форм АБ є подібними. Анізотропний характер взаємодії клітин АБ з рослинними клітинами [5, 6] пов’язують з наявністю на одному з полюсів клітини АБ кислого екзополісахариду маннаної природи [7], що може електростатично взаємодіяти з негативно зарядженими групами поверхневих лектинів рослинної клітини. Проте феномен взаємодії клітин АБ між собою з утворенням розеткоподібних структур [5, 6] свідчить, що взаємодія відбувається через компоненти полюсу клітини, які містять цей полісахарид, що не пояснюється електростатичною взаємодією, так як заряди одного знаку відштовхуються. З іншого боку [8], надлишок активних форм кисню (АФК) і тканинна гіпоксія, подібно як у розростаннях коренів рослин, супроводжує низку патологічних процесів у ба-

гатоклітинних організмах, зокрема пухлинний ріст у ссавців, причому в них гліколітичний фенотип корелює з наявністю біогенних магнітних наночастинок (БМН) [9–11].

Можливість синтезу БМН у АБ та їх рослин-господарів спирається не тільки на праці [12, 13], у яких показано вплив магнітного поля на розвиток пухлин у інфікованих АБ рослин, а й на праці, які показують, що механізм синтезу БМН є загальним для всіх трьох царств живих організмів – Архей, Прокаріот, Еукаріот, що підтверджується багатьма фенотиповими проявами [14]. До того ж приналежність АБ до α -протеобактерій [2], серед яких є багато магнітотаксисних видів [15], також може свідчити на користь наявності в клітинах АБ магнітної фази у вигляді БМН.

Наведене вище дає можливість припускати, що в основі взаємодії АБ та клітин коренів можуть бути магнітні сили, що виникають між магніточутливими наноструктурами АБ і рослин; а надлишок реакційноздатного кисню та іонів заліза для запобігання оксидативного стресу може додатково знешкоджуватися посиленням синтезу наночастинок біомінералів оксидів заліза.

Процес синтезу БМН є найбільш вивченим у бактерій, які здатні орієнтуватись у зовнішньому магнітному полі – магнітотаксисних бактерій (МТБ) [15]. В їх клітинах БМН зосереджені в магнітосомах, утворення яких контролюється білками групи Mam, які мають переважно мембранну локалізацію та кодуються специфічною ділянкою геному – магнітосомним острівцем (МО). Більшою мірою ці білки охарактеризовано [16] для МТБ *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1. Виділяють два основні

класи Mam-білків: білки, без яких неможлива біомінералізація (MamA, MamB, MamM, MamE, MamO, MamN) та регуляторні білки, що контролюють розмір та форму (MamG, MamD, MamC, MamF, MamP, MamR, MamS, MamT), збирання частинок у ланцюжок (MamK, MamJ), формування везикул навколо кристала біомінералу (MamQ, MamI, MamL) [15].

Пошук гомологів білків МО *M. gryphiswaldense* MSR-1 у протеомі АБ та з'ясування їх функцій дасть можливість отримати додаткові аргументи для формулювання гіпотези про ці мікроорганізми як можливі продуценти БМН.

Постановка задачі

Мета дослідження — з використанням методів біоінформаційного аналізу ідентифікувати у протеомі АБ та рослин-господарів гомологи білків *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1, які є ключовими для біомінералізації біогенних магнітних наночастинок.

Матеріали і методи

Біоінформаційні дослідження проводили з використанням амінокислотних послідовностей протеому симбіотичних АБ: *Rhizobium leguminosarum* (trifolii), *Rhizobium lupini*, *Rhizobium japonicum*, *Rhizobium giardinii*, *Rhizobium gallicum*, *Rhizobium mongolense*, *Sinorhizobium fredii*, *Sinorhizobium meliloti*, *Azorhizobium* sp., *Mesorhizobium amorphae*, *Mesorhizobium loti*. Також були використані послідовності протеому фітопатогенних АБ — *Rhizobium vitis* S4, *Rhizobium radiobacter* K84, *Agrobacterium tumefaciens* C58, *Agrobacterium tumefaciens* 5A, *Agrobacterium tumefaciens* F2. Досліджували також протеоми типових рослин-господарів АБ на наявність гомологів білків Mam.

Вирівнювання проводили порівнянням з амінокислотними послідовностями білків групи Mam *M. gryphiswaldense* MSR-1. Дані про амінокислотні послідовності, структуру, фізико-хімічні властивості та функції досліджуваних білків були взяті з бази даних NCBI (National Center for Biotechnological Information) [17]. Для оцінки ступеня подібності первинної структури досліджуваних білків проводили попарні вирівнювання їх амінокислотних послідовностей, використовували вільний у доступі онлайн-сервіс BLASTp (Basic Local Alignment Search Tool for Protein Sequences) бази даних NCBI [17]. Серед критеріїв вирівнювання амінокислотних послідовностей врахову-

вали Е-число — показник, який відображає статистичну значимість вирівнювання, та нижче значення якого вказує на менший рівень прояву фактора випадковості при збігу амінокислотних залишків білків [17]. Також оцінювали значення І (у %) — кількості ідентичних амінокислотних залишків білків, що порівнюються, і показник Query Cover (у %), що є відсотком перекривання амінокислотних послідовностей, у межах якої проводиться вирівнювання. Множинне вирівнювання амінокислотних послідовностей білків-гомологів здійснювали за допомогою онлайн-ресурсу COBALT (Constraint-based Multiple Protein Alignment Tool) сайту NCBI.

Результати та їх обговорення

Проведений біоінформаційний аналіз вирівнювань білків МО МТБ *M. gryphiswaldense* MSR-1 з компонентами протеому АБ показав наявність впевнених гомологів ключових білків біомінералізації МТБ — MamB, MamM, MamA, MamO, MamE, MamN у низки симбіотичних та патогенних АБ, а також типових рослин-господарів симбіонтів (табл. 1).

Результати попарних вирівнювань амінокислотних послідовностей протеому симбіотичних АБ та білків MamB і MamM МТБ *M. gryphiswaldense* MSR-1 свідчать про те, що величини Е-числа для відповідних гомологів у АБ перебувають у діапазоні від 5e-14 (для гомолога *Rhizobium lupini*) до 9e-26 (у *Rhizobium vitis* S4). Білкам MamB і MamM для кожного досліджуваного штаму симбіотичних АБ відповідає по одному білку-гомологу. Величини показника Е-числа для гомологів білка MamM є близькими до таких для MamB та коливаються для білків різних штамів симбіотичних АБ в діапазоні від 6e-13 для *Rhizobium gallicum* до 5e-21 у гомолога в протеомі *R. japonicum*. Кількість ідентичних залишків при порівнянні білків МТБ та гомологічних їм білків свідчить про подібні механізми формування просторової структури гомологів MamB і MamM МТБ у АБ. Аналіз даних про білки, представлених в базі NCBI, свідчить про подібність структурних елементів у їх складі та близькі значення показника їх молекулярної маси, що перебувають у межах 32,5–50,6 кДа, що спричинено різною довжиною цитозольного С-кінцевого варіабельного фрагмента. Білки-гомологи мають трансмембранну локалізацію та містять у своєму складі шість висококонсервативних доменів типу CDF —

Таблиця. Показники значимості вирівнювань амінокислотних послідовностей білків групи Mam *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 і компонентів протеому симбіотичних та патогенних АБ і типових рослин-господарів

Назва штаму	Е-число (I, %/Q, %)					
	Mam A	Mam B	Mam M	Mam E	Mam O	Mam N
Симбіотичні агробактерії						
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	4e-09 (28/74)	1e-20 (28/83)	1e-14 (27/83)	3e-35 (37/62)	5e-14 (36/25)	0.12 (25/35)
<i>Rhizobium lupini</i> *	2e-06 (27/93)	5e-14 (26/80)	2e-12 (30/70)	4e-36 (36/59)	5e-09 (29/25)	0.50 (23/74)
<i>Rhizobium Japonicum</i>	7e-09 (32/90)	2e-20 (32/79)	5e-21 (31/82)	3e-37 (41/58)	7e-13 (29/30)	5e-06 (23/54)
<i>Rhizobium giardinii</i> *	2e-06 (23/79)	4e-20 (25/93)	2e-17 (27/82)	2e-39 (47/53)	5e-10 (27/28)	0.015 (29/26)
<i>Rhizobium gallicum</i> *	8e-10 (27/74)	2e-17 (26/83)	6e-13 (26/81)	3e-36 (37/41)	2e-13 (36/25)	0.079 (33/14)
<i>Rhizobium mongolense</i> *	3e-08 (27/71)	1e-22 (28/87)	1e-14 (25/86)	4e-38 (38/57)	5e-12 (35/25)	0.004 (29/26)
<i>Sinorhizobium fredii</i>	8e-08 (37/50)	3e-21 (28/92)	5e-15 (27/81)	3e-37 (49/53)	4e-10 (31/26)	5e-04 (32/26)
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	9e-08 (27/69)	2e-19 (26/89)	9e-14 (27/81)	6e-37 (50/53)	3e-10 (28/37)	0.014 (30/26)
<i>Azorhizobium</i>	4e-05 (28/63)	2e-18 (24/84)	3e-16 (26/85)	6e-39 (44/53)	1e-09 (30/25)	0.047 (41/15)
<i>Mesorhizobium amorphae</i> *	9e-10 (27/73)	6e-25 (27/91)	2e-19 (26/91)	8e-38 (40/57)	6e-11 (30/25)	2e-08 (24/61)
<i>Mesorhizobium loti</i>	2e-10 (26/73)	4e-24 (27/91)	1e-17 (26/89)	8e-38 (42/58)	3e-09 (30/25)	9e-10 (23/92)
Патогенні агробактерії						
<i>Rhizobium vitis</i> S4	4e-06 (25/85)	9e-26 (31/87)	5e-17 (26/88)	1e-36 (43/52)	7e-12 (32/26)	9e-05 (23/56)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> C58 *	2e-06 (26/93)	1e-24 (30/87)	1e-20 (29/86)	3e-36 (40/54)	2e-11 (27/38)	2.5 (22/72)
<i>Rhizobium radiobacter</i> K84	7e-05 (28/51)	4e-22 (28/89)	3e-17 (28/90)	7e-36 (43/51)	4e-10 (33/25)	5e-04 (24/55)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 5A*	2e-05 (22/93)	2e-19 (29/87)	2e-17 (29/86)	2e-36 (37/58)	2e-11 (28/37)	1.0 (23/72)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> F2*	3e-07 (24/93)	1e-19 (29/87)	3e-18 (28/86)	1e-38 (38/59)	1e-10 (27/38)	0.15 (23/53)
Рослини-господарі симбіотичних агробактерій						
Соя культурна (<i>Glycine max</i>)	1e-07 (24/73)	5e-32 (27/96)	6e-28 (30/80)	2e-30 (44/20)	6e-06 (24/28)	3e-11 (28/47)
Квасоля звичайна (<i>Phaseolus sp.</i>)	6e-08 (23/67)	2e-31 (27/89)	4e-28 (30/80)	1e-31 (44/20)	3e-06 (24/27)	3e-11 (28/43)
Люцерна (<i>Medicago</i>)	9e-08 (22/73)	2e-10 (40/21)	2.4 (20/12)	1e-32 (45/20)	1e-06 (23/26)	4e-10 (27/42)
Нут (<i>Cicer arietinum</i>)	1e-08 (22/71)	1e-30 (26/89)	2e-29 (30/80)	2e-31 (44/20)	5e-07 (24/26)	1e-09 (26/89)

Примітка: * послідовності геному повністю не встановлені.

cation diffusion facilitator (з англ. — ті, що сприяють полегшеній дифузії катіонів) та спричинюють толерантність АБ до надлишку катіонів

двовалентних металів (Zn^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+}). Подібність ідентифікованих білків симбіотичних АБ до білків MamB та MamM МТБ співвідносить-

ся із виявленням збігом їх функцій. Так, ці білки у МТБ є ключовими для надходження у магнітосому іонів Fe^{2+} , мають у своєму складі шість трансмембранних доменів та сайти зв'язування двовалентних катіонів важких металів [14, 15]. Білки MamM і MamB належать до родини CDF-транспортёрів, що полегшують дифузію катіонів (Zn^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} і Fe^{2+}) через мембрану з цитоплазми у внутрішньоклітинний, периплазматичний або позаклітинний простір за допомогою рушійної сили протонного потенціалу [12].

Можна припустити, що толерантність симбіотичних АБ до надлишку іонів заліза, які можуть бути токсичними через здатність індукувати реакцію Фентона, може реалізовуватися як через виведення їх з клітини, так і біомінералізацією у вигляді ковалентних сполук заліза (оксидів). При цьому гомологам білків MamB та MamM відводиться визначальна роль у функціонуванні цього регуляторного механізму. Невеликий діапазон коливань еволюційної відстані для гомологів у САБ співвідноситься з подібними функціями білків-гомологів (вторинним транспортом двовалентних катіонів за їх участі) та свідчить про високу консервативність доменів CDF у них.

Результати біоінформаційного аналізу, попередньо отримані для мікроорганізмів: прокариот, архей, грибів, еукаріот, – у фенотиповому прояві яких виявлено БМН, свідчать про те, що присутність у протеомі гомологів принаймні для цих двох білків *M. gryphiswaldense* MSR-1 є достатньою умовою можливості синтезу БМН у цих мікроорганізмах.

Дані, наведені в таблиці, вказують на наявність у протеомі симбіотичних та патогенних АБ білків, гомологія яких до білка MamA *M. gryphiswaldense* MSR-1 не є виключеною. Це впливає із значень E-числа, що становлять від 2×10^{-5} для *Agrobacterium tumefaciens* 5A до 9×10^{-10} для гомолога *Mesorhizobium amorphae*. Також результати, що вказують на кількість ідентичних до MamA амінокислотних залишків у гомологах, дають змогу стверджувати про наявність у них спільного механізму формування третинної структури з мотивами у вигляді тетрапептидних повторів (TPR), які присутні у всіх гомологах білка MamA досліджуваних штамів АБ.

З даних літератури відомо, що білок MamA МТБ є необхідним для активації магнітосомної везикули, що передуює транспортуванню в неї катіонів заліза [19, 20]. Ця активація

полягає в опосередкуванні формування функціонально активних мультибілкових комплексів у мембрані магнітосом, зокрема, олігомеризації білків MamB і MamM. У білку MamA TPR мотиви формують суперспіраль і сайти для гомологізації та взаємодії з іншими білками. Ці структурні особливості дають можливість цьому білку у зборці мультибілкових комплексів, сортуванні білків та просторовій їх організації [15, 19].

Функції більшості з досліджуваних гомологів білка MamA *M. gryphiswaldense* MSR-1 залишаються нез'ясованими та можуть бути передбачені з присутності в послідовності даних гомологів TPR-доменів. У клітинах *Rhizobium mongolense* та *Sinorhizobium meliloti* білки-гомологи виконують функцію аденілатциклази, що взаємодіє з адаптерним G-білком та синтезує з аденозинтрифосфорною кислотою (АТФ) вторинний месенджер – циклічний аденозинмонофосфат. Аденілатциклаза є компонентом системи трансмембранної передачі екзогенних сигналів у клітину. Присутність TPR-доменів у складі аденілатциклази є притаманною ознакою лише АБ [17]. Це дає можливість припустити, що при зміні умов середовища чи за дії певних стимулів, наслідком яких може бути синтез БМН, можливе перемикання між функціями цього білка та зміна його локалізації у клітині. У *Rhizobium japonicum* та *Mesorhizobium amorphae* білки-гомологи представлені ацетилглюкозамін- та сульфотрансферазою відповідно, основною функцією яких є спряжена з фолдингом посттрансляційна модифікація білків [17]. Враховуючи наведене вище, можна припустити, що гомологи білка MamA у симбіотичних АБ можуть бути залучені у процес БМН, беручи участь в активації інших необхідних для цього процесу комплексів, їх збірці та молекулярній передачі сигналу через приєднання до них певних хімічних груп (ацетилювання, сульфонування тощо). Аналіз філогенетичного дерева, побудованого на основі результатів множинного вирівнювання амінокислотних послідовностей гомологів білка MamA *M. gryphiswaldense* MSR-1 у симбіотичних АБ вказує на те, що, на відміну від даних філогенетичного дерева гомологів білків MamB та MamM, діапазон еволюційних відстаней Грішина від уявного кореня для дерева гомологів білка MamA МТБ є більшим, що може бути пов'язано з розбіжностями у функціях білків-гомологів, їх молекулярній масі та в амінокислотних послідовностях для певного роду симбіотичних АБ.

Порівняння значень відповідних Е-чисел свідчить про більший ступінь гомології компонентів протеому симбіотичних АБ до білка MamE *M. gryphiswaldense* MSR-1, ніж білків-гомологів MamO у АБ при проведенні відповідного вирівнювання. Встановлено, що гомологи білків MamE і MamO у протеомі АБ є близькими за молекулярною масою, яка коливається у межах 48,8–58,9 кДа, та представлені олігомерними трипсиноподібними сериновими протеазами родини Do/Deg/Htr, які характеризуються наявністю висококонсервативних PDZ-доменів [20, 21]. Функцією цих доменів є участь в реакції на тепловий шок, шапероноподібна активність, та у складі доменів цих протеаз є сайти зв'язування поліпептидів [22]. У МТБ білки MamO та MamE входять до складу мембрани магнітосом та є трипсиноподібними сериновими протеазами, необхідними для посттрансляційного дозрівання секреторних і мембранних білків, опосередкування сигнальних каскадів у відповідь на клітинний стрес тощо [15, 19]. Визначальною є їх роль у забезпеченні правильного взаємного просторового розміщення мембранних білків у мембрані магнітосом. Також припускається їх роль у створенні структури мінералу, оскільки експериментально доведено [23], що мутації генів, що кодують білки MamE та MamO у МТБ, призводять до втрати біомінералом кристалічної структури або до нездатності МТБ синтезувати БМН взагалі.

Результати попарних вирівнювань амінокислотних послідовностей білків МО МТБ *M. gryphiswaldense* MSR-1 (див. таблицю) з білками рослин-господарів АБ вказують на наявність впевнених гомологів білків MamA, MamB, MamM, MamE, MamO та MamN у чотирьох видів – сої культурної (*Glycine max*), квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris*), люцерни (*Medicago truncatula*) і нуту (*Cicer arietinum*). Всі ці рослини є представниками родини Бобові та модельними організмами, які чутливі до інфікування широким спектром симбіотичних АБ [1].

Дані відповідних вирівнювань вказують на збіг як первинної структури, так і доменного складу білків-гомологів Mam МТБ у цих видів рослин. Варто зазначити, що порівняно з величинами Е-чисел для гомологів білків MamO та MamA менші значення цього показника для гомологів MamB, MamM і MamE у рослин доводять високу консервативність доменів у складі цих білків та їх принципову роль у синтезі БМН.

При порівнянні функцій білків Mam *M. gryphiswaldense* MSR-1 з виявленими білками-гомологами бобових рослин встановлено подібність функцій для відповідних гомологів до білків MamB, MamM, MamO, MamE, MamN МТБ. Білки-гомологи MamB і MamM забезпечують толерантність до двовалентних металів (Co^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+}), а гомологи білків MamO та MamE є трипсиноподібними сериновими протеазами. Гомологи білка MamN є arsB-подібними транспортерами з доменом Na^+/H^+ -антипортера. Усі гомологи білка MamA *M. gryphiswaldense* MSR-1 у рослин містять у своєму складі мотиви TPR, але вони асоційовані з біогенезом пероксисом і регуляцією клітинного циклу, тобто їх функція може бути не пов'язана з біомінералізацією БМН.

Таким чином, у протеомі чотирьох рослин, які є типовими рослинами-господарями для симбіотичних АБ, виявлено гомологи білків, принципів для синтезу БМН, що дає змогу припускати наявність у клітинах рослин-господарів симбіонтів магніточутливих наноструктур. На сьогодні не відомо, чи має місце синтез БМН у рослин конститутивно, або ж він індукується у відповідь на клітинний стрес, надлишок заліза, пошкодження тканин тощо. На основі результатів біоінформаційного аналізу (гомологія та спільні функції білків САБ, ПАБ і бобових рослин з білками МО МТБ) встановлено здатність симбіотичних АБ та їх типових рослин-господарів, а також фітопатогенних АБ виступати потенційними продуцентами БМН або магніточутливих наноструктур (в т.ч. магнетитовмісних).

З одного боку, здатність АБ як факультативних аеробів при зміні середовища існування (при переході з ґрунту в тканини рослин) переходити на отримання енергії через анаеробний метаболізм [2]. Щодо МТБ відомо, що в аеробних умовах вони здатні орієнтуватися у відповідь на магнітне поле, проте, не синтезують БМН [15]. У зв'язку з цим відкритим залишається питання про те, чи містять клітини АБ в аеробних умовах магніточутливі структури або ж набувають їх вже в мікроаерофільному оточенні.

Феномен анізотропної взаємодії клітин АБ між собою у культурі з утворенням розетки, в центрі якої локалізовані кислі полісахариди [5], може пояснюватися притяганням магнітних диполів, в той час як на початкових етапах інфікування клітин кореня рослин може відбуватися як електростатична диполь-дипольна вза-

ємодія позитивно заряджених груп полісахариду АБ та лектинів мембрани рослинної клітини, так і сили магнітодипольної взаємодії (у випадку наявності БМН як у клітинах АБ, так і рослин). Присутність БМН не у всіх видів симбіотичних АБ та їх рослин-господарів вказує на те, що останній з механізмів може бути додатковим і сформуватися внаслідок коеволюції рослин та АБ для забезпечення більшої успішності симбіозу. Для рослин, що чутливі до інфікування патогенними АБ, не виявлено потенційної здатності до синтезу БМН. Це підтверджує відсутність коеволюції АБ і рослин в цьому випадку.

Однак функціональна роль БМН агробактерій не обмежується лише забезпеченням взаємодії їх клітин між собою. Надлишок іонів заліза, які поглинаються клітинами симбіотичних АБ у зв'язку з необхідністю синтезу значної кількості леггемоглобіну, може виводитися з клітини або у вигляді оксидів депонуватися у наночастинках біомінералу. Це зменшує кількість іонізованої форми заліза, що може вступати у вільнорадикальні реакції, а з іншого боку, сприяє зв'язуванню кисню, який бере участь у формуванні АФК, а в молекулярній формі перешкоджає азотфіксації, інгібуючи нітрогеназу. Цей механізм зменшення вмісту АФК має місце і у МТБ, адже відомо, що при біосинтезі БМН у МТБ зменшується концентрація іонів заліза в цитозолі і, як наслідок, зменшується кількість АФК [24]. Проте екзогенний магнетит, не вкритий шаром органічного матеріалу, приводить до оксидативного стресу в клітинах прокариот [24, 25].

Отже, синтез БМН є одним з додаткових механізмів реалізації антиоксидантної функції та забезпечення виживання інфікованих клітин рослин, що містять бактеріоди АБ, в умовах оксидативного стресу. Подібний механізм може реалізуватися і у пухлинах тварин і людини, які порівняно з нормальними тканинами характеризуються підвищеним вмістом магнетиту [26]. Також однією з функцій БМН може бути магнітна концентрація ефективно парамагнітних компонент. Тобто БМН можуть являти собою внутрішньоклітинну магнітну наномашину для управління транспортними процесами за наявності парамагнітних або ефективно парамагнітних кластерних компонент, в т.ч. реагентів і/або продуктів біохімічних реакцій.

Відомо, що в клітинах МТБ БМН магнетиту колокалізовані з компонентами кластерного типу (гранули, везикули, вакуолі), збагаченими киснем, сіркою та фосфором [24]. Ця

просторова локалізація кластерних компонентів, що містять парамагнітні сполуки, може бути результатом їх магнітного захоплення в діамантному середовищі. Неоднорідний розподіл концентрації заряджених ефективно парамагнітних компонентів в околі намагніченої частинки є також джерелом створення концентраційної електрорушійної сили. У зв'язку з цим власні неоднорідні магнітні поля БМН можуть впливати на швидкість та зумовлювати анізотропію біохімічних реакцій, найповільнішою стадією яких є надходження реагентів у клітинний компартмент [20]. Це може спричиняти інтенсифікацію метаболічних процесів, у які залучені фосфор, сірка, кальцій у бактеріодах симбіотичних АБ і клітинах інфікованих ними рослин. Також цим може пояснюватися описаний у [12, 13] ефект зростання кількості індукованих АБ розростань коренів рослин-господарів у два–три рази та посилення інфікування коренів АБ при дії магнітного поля. Дослідження фенотипових проявів симбіотичних і патогенних АБ та їх рослин-господарів дасть можливість перевірити припущення стосовно їх здатності синтезувати біогенні магнітні наночастинки та їх можливих функцій.

Висновки

Проведені дослідження свідчать, що штами симбіотичних АБ, здатних до формування бульбочок коренів рослин, а також типові представники рослин-господарів АБ можуть бути потенційними продуцентами біогенних магнітних наночастинок (БМН), або магніточутливих наноструктур, адже всі білки генів МО МТБ *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1, без яких неможлива БМН наночастинок, а саме MamB, MamM, MamE та MamO, мають високий ступінь гомології з білками симбіотичних АБ та рослин і характеризуються подібними функціями.

Штами АБ, здатні до формування пухлинних розростань коренів рослин, на відміну від непатогенних штамів АБ, можуть бути потенційними продуцентами БМН завдяки наявності в протеомі гомологів ключових білків синтезу БМН у МТБ – MamA, MamB, MamM, MamO, MamE.

У зв'язку з цим перспективним є проведення подальших досліджень магніточутливих наноструктур як одного з фенотипових проявів АБ та впливу магнітних полів різної інтенсивності на ефективність інфікування рослин агробактеріями і утворення розростань коренів.

Список літератури

1. I.E. Dodueva *et al.*, "Plant Tumorigenesis: Different Ways for Shifting Systemic Control of Plant Cell Division and Differentiation", *Transgenic Plant Journal*, vol. 1(1), pp. 17–38, 2007.
2. T. Tzfira and V. Citovsky, *Eds.*, *Agrobacterium: From Biology to Biotechnology*. New York: Springer, 2008, 735 p.
3. P.M. Merritt *et al.*, "Motility and chemotaxis in *Agrobacterium tumefaciens* surface attachment and biofilm formation", *J. of Bacteriol.*, vol. 189, no. 22, pp. 8005–8014, 2007.
4. J. Prell and P. Poole, "Metabolic changes of rhizobia in legume nodules", *Trends in Microbiol.*, vol. 14, no. 4, pp. 161–168, 2006.
5. D. Amelia *et al.*, "Mechanisms and Regulation of Polar Surface Attachment in *Agrobacterium tumefaciens*", *Curr. Opin. Microbiol.*, vol. 12(6), pp. 708–714, December 2009.
6. A.C. Braun, "Stages in the life history of *Phytomonas tumefaciens*", *J. Bacteriol.*, no. 52, pp. 695–702, 1946.
7. M. Janczarek, "Environmental Signals and Regulatory Pathways That Influence", *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 12, pp. 7898–7933, 2011.
8. W.S. Wu, "The signaling mechanism of ROS in tumor progression", *Cancer Metastasis Rev.*, vol. 25(4), pp. 695–705, 2006.
9. V.F. Chekhun *et al.*, "Magnetic nanostructures in tumour cells", *Research bulletin of the National Academy of Sciences of Ukraine*, no. 9, 2011.
10. V.F. Chekhun *et al.*, "Magnetically ordered nanostructures of endogenous origin in Erlich carcinoma cells", *Nanostructural science of materials (Ukrainian Journal)*, no. 2, 2011.
11. Yu.I. Gorobets and S.V. Gorobets, "Stationary flows of electrolytes in the vicinity of ferromagnetic particles in a constant magnetic field", *Bulletin of Kherson State Technical University (Ukrainian Journal)*, vol. 3(9), pp. 276–281, 2000.
12. Y.-X. Jing *et al.*, "Effect of magnetic field on symbiotic nitrogen fixation of soybean nodules", *Acta Botanica Sinica*, vol. 34, no. 5, pp. 364–368, 1992.
13. R. Bajwa *et al.*, "Effect of electromagnetism on nodulation, vesicular arbuscular mycorrhizal infection and top growth of chickpea. I. Response of electromagnetized rhizobium", *J. of Phytopathology*, vol. 7(1), pp. 76–77, 1995.
14. M.B. Vainshtein *et al.*, "A new type of magnetosensitive inclusions in cells of photosynthetic purple bacteria", *Syst. Appl. Microbiol.*, no. 20, pp. 182–186, 1997.
15. A. Komeili, "Molecular Mechanisms of Compartmentalization and Biomineralization in Magnetotactic Bacteria", *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 36(1), pp. 232–255, 2012.
16. D. Schuler, "Genetics and cell biology of magnetosome formation in magnetotactic bacteria", *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 32, pp. 654–672, 2008.
17. Basic Local Alignment Search Tool [Online]. Available: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>
18. W. Li *et al.*, "Saturated BLAST: an automated multiple intermediate sequence search used to detect distant homology", *Bioinformatics*, vol. 16, no. 12, pp. 1105–1110, 2000.
19. D. Schuler, "Characterization of the magnetosome membrane in *Magnetospirillum gryphiswaldense*", in *Biomineralization of nano- and microstructures*. Ch. 8, E. Bäuerlein, Ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2000, pp. 109–118.
20. A. Komeili *et al.*, "Magnetosome vesicles are present before magnetite formation, and MamA is required for their activation", *PNAS*, vol. 101, no. 11, pp. 3839–3844, 2004.
21. Uniprot [Online]. Available: <http://www.uniprot.org/uniprot/F6EAD5>
22. B.Z. Harris and W.A. Lim, "Mechanism and role of PDZ domains in signaling complex assembly", *J. of Cell Science*, vol. 114, pp. 3219–3231, 2011.
23. W. Yang *et al.*, "mamO and mamE genes are essential for magnetosome crystal biomineralization in *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1", *Res. Microbiol.*, vol. 161, no. 8, pp. 701–705, 2010.
24. W. Yang *et al.*, "Magnetosomes eliminate intracellular reactive oxygen species in *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1", *Environ. Microbiol.*, vol. 14, is. 7, pp. 1722–1729, 2012.
25. Gorobets O.Yu. *et al.*, "Biogenic Magnetic Nanoparticles: Biomineralization in Prokaryotes and Eukaryotes", Accepted for publication in *Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, 3rd ed., 2014.
26. Чехун В.Ф., Горобець С.В., Горобець О.Ю. та ін. Магніточутливі наноструктури ендogenous походження у клітинах карциноми Ерліха // *Наноструктурное материаловед.* – 2011. – № 2. – С. 102–109.